

- トコフェロールは高インスリン血症における傷害血管新生内膜増殖を抑制する: - トコフェロールとの比較

著者	高橋 克明
号	2215
発行年	2005
URL	http://hdl.handle.net/10097/22797

氏 名（本籍）たかはしかつあき
高 橋 克 明

学 位 の 種 類博士（医学）

学 位 記 番 号医博第2215号

学位授与年月日平成17年3月25日

学位授与の条件学位規則第4条第1項該当

研 究 科 専 攻東北大学大学院医学系研究科
（博士課程）医科学専攻

学 位 論 文 題 目 γ -トコフェロールは高インスリン血症における
傷害血管新生内膜増殖を抑制する： α -トコフェ
ロールとの比較

（主 査）

論 文 審 査 委 員教授白土邦男教授伊藤貞嘉

教

授

山

家

智

之

論文内容要旨

背景

インスリン抵抗状態では、血管組織の酸化ストレスは亢進し、血管リモデリングが促進することが知られている。従って抗酸化治療は、酸化ストレスを減弱させ、病的血管リモデリング、すなわちプラークや新生内膜形成といった血管壁構造変化を抑制して動脈硬化の進行を抑え、虚血性心血管疾患の発症を予防する効果が期待される。しかし近年の大規模臨床研究は、 α -トコフェロールを用いた抗酸化療法の心血管疾患予防効果に関しては、概して否定的な結果に終わっている。著者は、インスリン抵抗状態、高インスリン血症における血管傷害後の新生内膜形成を取り上げ、ビタミンEとして従来用いられている α -トコフェロールよりも γ -トコフェロールの方が優れた新生内膜抑制効果を示すのではないかという仮説を立て検証した。

目的

高インスリン血症において促進される血管傷害後の新生内膜形成に対する α -トコフェロールと γ -トコフェロールの効果を比較する。

方法

8週齢の雄性ラットを2群に分ち、一方を普通食（正常対照群：N群）で、他方を高フルクトース食で4週間飼育した。後者においてはインスリン抵抗状態が誘導され、代償性高インスリン血症を呈した（高インスリン血症群：HI群）。後者はさらにトコフェロール非投与群（HI群）、 α -トコフェロール投与群（HI+ α 群）、 γ -トコフェロール投与群（HI+ γ 群）に分割した。トコフェロールは各々100 mg/kg/dayを血管傷害3日前から実験終了まで経口投与した。4群のラットに対して左総頸動脈を内腔側から2Frバルーンカテーテルで擦過し血管傷害モデルを作製、2週後、頸動脈を摘出して組織切片を作製し新生内膜形成を組織学的に評価した。全身性の酸化ストレスの指標として、血中の過酸化脂質物質フォスファチジルコリンヒドロペルオキシド（PCOOH）の定量を高分離能液体クロマトグラフィー（CL-HPLC）法で測定した。頸動脈局所の酸化ストレスの評価として、スーパーオキシド産生をエチジウム蛍光染色法とルシゲニン化学発光法で、酸化ストレス関連遺伝子p47^{phox}、Cu/Zn-SOD及び細胞周期関連遺伝子サイクリンD₁、p21^{Cip1}、p53の発現解析をRT-PCR法で検討した。経口投与したトコフェロールの生体内分布は、HPLC法による血中濃度と組織内濃度測定により確認した。

結 果

HI 群の傷害血管における新生内膜/中膜比 ($n=8$, 1.28 ± 0.14) は、N 群 ($n=10$, 0.82 ± 0.14) よりも有意に増加していた。新生内膜面積は、HI + γ 群 ($n=5$, $0.08 \pm 0.02 \text{ mm}^2$) において HI 群 ($0.18 \pm 0.03 \text{ mm}^2$) と比較し有意に抑制されていたが、HI + α 群 ($n=7$, $0.17 \pm 0.04 \text{ mm}^2$) では抑制されていなかった。血清の PCOOH と頸動脈組織切片のエチジウム蛍光染色で評価した酸化ストレスは、HI 群では N 群よりも有意に増加していた。経口投与されたトコフェロールは、 α -、 γ -ともに血中濃度を増加させ、 γ -トコフェロール投与群では傷害血管への γ -トコフェロール高度集積が確認された。 α -、 γ -トコフェロール投与により頸動脈組織局所の酸化ストレスは抑制されなかった。 γ -トコフェロール投与群では、傷害血管のサイクリン D₁ mRNA の発現が α -トコフェロール投与群と比較して有意に抑制されていた。

結 論

インスリン抵抗性を誘導し、代償性高インスリン血症を呈するラットでは、血管壁の酸化ストレスは亢進し、血管傷害後の新生内膜形成が増加する。この新生内膜増殖を γ -トコフェロールは抑制するが、 α -トコフェロールにはそのような作用は認められない。 γ -トコフェロールに特有の新生内膜増殖抑制作用は抗酸化作用とは独立した作用である。以上より、 γ -トコフェロール投与は α -トコフェロール投与と比較して血管傷害後の新生内膜形成を抑制するのにより有効であると考えられる。

審 査 結 果 の 要 旨

インスリン抵抗状態では、血管組織の酸化ストレスは亢進し、血管リモデリングが促進することが知られている。従って抗酸化治療は、酸化ストレスを減弱させ新生内膜形成のような病的血管リモデリングを抑制する効果が期待される。しかし近年の大規模臨床研究は、 α -トコフェロールを用いた抗酸化療法の心血管疾患予防効果に関して、概して否定的な結果に終わっている。そこで本研究では、最近の研究で α -トコフェロールにない血管保護作用が明らかになりつつあり、かつ今まであまり注目されてこなかった γ -トコフェロールを取り上げ、インスリン抵抗状態及び高インスリン血症における血管傷害後の新生内膜形成に対するその作用を検討し、 α -トコフェロールと比較した。

高フルクトース食餌により高インスリン血症をラットに誘導し、頸動脈バルーン傷害後の新生内膜増殖を観察した。定量的組織解析を行うと、高インスリン血症は過剰な新生内膜形成を生ぜしめ、 γ -トコフェロールは著明にその新生内膜増殖を抑制したが、 α -トコフェロールにはその様な作用は認められなかった。フォスファチジルコリンヒドロペルオキシドにより全身性の酸化ストレスをまたジヒドロエチジウム法やルシゲニン法により血管壁局所の酸化ストレスを評価したところ、高インスリン血症は全身及び血管壁局所の酸化ストレス亢進をもたらすことが明らかとなったが、その高い酸化状態に対する効果は、 α -と γ -トコフェロールの間に有意差は見られず、殊に血管壁局所の酸化ストレスはいずれによっても軽減しなかった。各種酸化ストレスや細胞回転をになう遺伝子発現を解析したところ、傷害血管のサイクリン D1 mRNA の発現のみが α -と比較して γ -トコフェロールで有意に抑制されていることが明らかとなった。また、血清と頸動脈組織のトコフェロール濃度を測定して投与したトコフェロールの目的臓器への移行を検討した。ここで興味深い点は、機序は明らかではないが、 γ -トコフェロールが α -トコフェロールよりも傷害組織へ集積しやすい性質を有することである。これらの結果から、著者は γ -トコフェロールがその抗酸化作用とは異なったメカニズムで頸動脈障害後の血管リモデリングを抑制すると結論している。

本研究は、 γ -トコフェロールの血管リモデリングに対する作用に着眼したところが新しく、またその検討のために共焦点レーザーマイクロコピー法、HPLC 法やリアルタイム RTPCR 法といったさまざまな研究方法を駆使して信頼性の高いデータを得たところが高く評価できる。そして今まで知られていなかった γ -トコフェロールの作用を明らかにするとともに、新しい治療薬剤としての γ -トコフェロールの可能性を開き、 α -トコフェロールを中心とした従来の抗酸化治療に対しても一石を投じるものである。本論文は動脈硬化性疾患の臨床にも大きなインパクトを与える価値ある論文である。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。